تقييم حساسية اصناف الباذنجان للإصابة بالفطر *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) deBary المسبب لمرض عفن الساق الأبيض في ظروف المختبر والبيت الزجاجي

نيران سالم الجراح
جامعة بغداد/ كلية الزراعة

الخلاصة :

اجري هذا البحث في كلية الزراعة / جامعة بغداد خلال موسم 2012 – 2013 . هدفت هذه الدراسة الى تقييم مقاومة ثلاثة اصناف من الباذنجان (ثريا F1 وبرشلونة وباريس) للاصابة بالفطر *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) deBary في المختبر والبيت الزجاجي ، فضلاً عن تطوير طرق تلقيح قليلة التكاليف وذات كفاءة عالية والتي تعطي نتائج متناسقة لغربلة النباتات المقاومة لتعفن الساق السكلروتيني . طبقت ثلاث طرق للتلقيح : تلقيح القمة المرستيمية لنباتات بعمر شهر بقرص من الغزل الفطري للمسبب المرضي المنمى على وسط البطاطا دكستروز اكار (5 ملم) واختبار الورقة المنفصلة بتلقيحها بكل من قرص من الغزل الفطري فضلا عن حامض الاوكساليك (10 ملي مول) واعتمد قياس طول بقعة الاصابة والنسبة المئوية للمساحة المصابة من الورقة فضلا عن فعالية انزيم البيروكسيديز لتقييم استجابة الاصناف للاصابة. اظهرت النتائج ظهور الاعراض خلال يوم الى 8 ايام بعد التلقيح في كلٍ من معاملتي تلقيح الاوراق المنفصلة ومعاملة تلقيح القمة المرستيمية على التوالي ، كما اظهرت استجابة الاصناف للاصابة فروقا احصائية معنوية، وكان الصنف ثريا F1 اقلهم حساسية للاصابة اذ كان طول بقعة الاصابة 14.67 ملم بعد خمسة عشر يوما من التلقيح وبلغت النسبة المئوية لمساحة الورقة المصابة 0.6% ، تلاه الصنفان برشلونة وباريس اللذان استجابا بطول بقعة مقدارها 45 و93.67 ملم و 1.39 و1.79 % لكلا منهما على التوالي . اظهرت فعالية انزيم البيروكسيديز في الاوراق المنفصلة المصابة زيادة تقدر بثلاثة وخمسة اضعاف عما في الاوراق غير الملقحة في

صنفي ثريا F1 وبرشلونة على التوالي ولم تظهر اي فروق معنوية في استجابة الصنف باريس .

كلمات مفتاحية : باذنجان ، تعفن الساق السكلروتيني ، *Sclerotinia sclerotiorum* ، فعالية البيروكسيديز.

المقدمة :

يعد الباذنجان .*Solanum melongena* L من الخضار الكثيرة الاستعمال في العراق ويزرع في كلٍ من الحقول المكشوفة صيفاً والبيوت المحمية شتاءاً ، وبحسب مديرية الاحصاء الزراعي لسنة 2010 فقد بلغت المساحات المزروعة في الزراعة المحمية 15147 دونماً بانتاج بلغ 11264 طناً. يتعرض المحصول للاصابة بالعديد من الامراض النباتية ومنها مرض عفن الساق الأبيض ، الذي يعد من الإمراض المهمة في الزراعة المحمية ولا توجد إحصاءات دقيقة في العراق تشير إلى مقدار الخسائر الناجمة عن الاصابة بالمرض ،ولكن بعض الدراسات سجلت نسبة اصابة مقدارها 3 – 60 % على محصولي الباذنجان والخيار داخل البيوت المحمية (جبر وحبيب 1986).

أن مسبب مرض عفن الساق الأبيض ***Sclerotinia sclerotiorum***(lib.) deBary من الفطريات التي تسبب خسائر كبيرة للكثير من المحاصيل والخضر في العالم ، وله مدى عائلي يصل لأكثر من 400 نوع نباتي فهو يصيب فضلاً عن الباذنجان محاصيل اقتصادية مهمة مثل الخيار وفول الصويا والباقلاء والفاصوليا والجت والمحاصيل الزيتية كالخردل وزهرة الشمس (Steadman وآخرون 1997 وDelclos وآخرون1997 و Kim وآخرون 2000 و Koch وآخرون 2007 و Garg وآخرون 2010).

يصيب الفطر عائلهُ في ظروف الحقل (الإصابة الطبيعية) أما بوساطة الغزل الفطري او بوساطة البوغ الكيسي الذي ينبت بعد سقوطه على سطح النبات وبوجود الظروف المناسبة (انخفاض درجات الحرارة وتوافر رطوبة عالية) فيصيب النباتات أثناء مرحلة التزهير ، ثم تظهر البقع المائية التي تحيط الساق ويحصل ذبول للنبات ثم موت لأنسجة الأوراق والسيقان ويرافق ظهور البقع المائية على سيقان النباتات وجود نمو ابيض وأجسام حجرية سوداء اللون على مختلف أجزاء النبات الهوائية (Jamaux وآخرون 1995). أن أمراضية الفطر تعتمد بشكل أساسي على إنتاجه لحامض الاوكساليك وهو غير سام للنباتات ، لكنه يعمل على زيادة إنتاج أنواع الأوكسجين الفعالة (ROS) في النباتات المصابة وهي

مرتبطة او مسئولة عن بدء المسارات الايضية والتي تؤدي إلى موت الخلايا المبرمج (PCD) خلال تطور المرض ، كما يعمل هذا الحامض جزيئة إشارة لبدء هذه العمليات بالنبات فضلا عن ان انخفاض درجة الحموضة بالنبات هي عملية مهمة لتكوين الأجسام الحجرية للفطر وإكمال دورة الحياة (Kim وآخرون 2008) وقد وجد أن تركيز الاوكسالات في الأنسجة المصابة بالفطر يصل إلى أكثر من 10 ملي مول (Bateman و Beer1965 وMarciano وآخرون 1983) ولوحظ أيضا تأثيره السلبي على نمو نباتات *Arabidopsis thaliana* الناتج من معاملتها بالحامض بتركيز 6 – 10 ملي مول /لتر (lehner وآخرون 2008) كما ينتج الفطر أيضا أنزيمات محللة للبكتين والسليلوز (lumsden 1969 وMarciano وآخرون 1982) وان مستوى فعالية هذه الأنزيمات مرتبطة مع تطور اعراض المرض (Favaron واخرون 1988).

تمتلك النباتات مجموعة من الآليات الخلوية لحمايتها من المسببات المرضية مثل إنتاج بروتينات ذات علاقة بالامراضية او انزيمات أو إنتاج مواد مضادة للاكسدة او حامض البرولين ويعتقد أن هذه العوامل مسيطر عليها باشارات معينة تصدر من تلك المسببات (Shoresh وآخرون 2010)؛ ويعد إنزيم البيروكسيديز (PO) احد هذه الاليات الذي يعمل على تنظيف او كنس الجذور الحرة بخلايا النبات والناتجة من تعرضه لعوامل الاجهاد وتعد المسببات المرضية واحدة من تلك العوامل (Hernandez وآخرون 2001).

استعملت طرق عديدة لتلقيح النباتات بالفطر *S. sclerotiorum* لأغراض غربلة الأصناف وانتخاب المقاوم منها في ظروف البيت الزجاجي والمختبر ، مثل طريقة تلقيح الأوراق الفلقية cotyledon inoculation (Grau و Bissonette 1974 و Kull وآخرون 2003)، وطريقة الساق المستأصلة excised stem واختبار الورقة المنفصلة detached leaf (Chun وآخرون 1987 وNelson وآخرون 1991 وWegulo وآخرون 1998 وSteadman وآخرون 2001 و Kull وآخرون 2003) وطريقة تلقيح الساق المجرحة cut-stem inoculation (Vuong وآخرون 2004) وطريقة التلقيح بتجريح سويق الورقة cut-petiole inoculation (Del Rio وآخرون 2001) وطريقة استعمال حامض الاوكساليك (Tu 1985 و Kolkman وKelly 2000) والتي تعد طرائق مباشرة للتلقيح باستعمال الغزل الفطري ، أما الطريقة الأخيرة فهي طريقة غير مباشرة

باستعمال عامل الامراضية الأساسي للفطر وهو حامض الاوكساليك (Kolkman وKelly 2000 و Antonio وآخرون 2008).

هناك بعض الممارسات الزراعية التي يمكن أن تزيد من شدة المرض وانتشاره عند توفر الظروف الجوية المناسبة، مثل الري الزائد وكثافة النباتات والمسافة بين نبات وآخر وطبيعة النمو الخضري وارتفاع النباتات وموعد التزهير وموعد نضج المحصول (Boland وHall 1987 و Kim وآخرون 2000) ، وبالرغم من وجود بعض المبيدات الفطرية التي استعملت لتقليل أضرار هذا المسبب إلا أنها لم تمنع الإصابة فضلا عن التلوث البيئي والكلف الاقتصادية التي لا يمكن إغفالها (Mueller وآخرون 2002 و Del Rio وآخرون 2001 ونعمة 2012)، ويعتقد أن استعمال المبيدات بالتوافق مع الدورات الزراعية هي من اهم طرق مكافحة المرض (Lu 2003)، لذلك فان طرق استنباط أصناف مقاومة للمرض تعد من أفضل الإستراتيجيات للسيطرة على المرض (Zhao واخرون 2004)، ونظرا لانتشار الزراعة المحمية لمحصول الباذنجان في العراق ولانتشار هذا المرض فيها ، فقد هدفت الدراسة إلى اختبار كفاءة ثلاث طرق مختلفة لتلقيح أصناف الباذنجان بالفطر *S. sclerotiorum* وتقييم حساسية هذه الاصناف للإصابة لمساعدة مربي النبات في إنتاج أصناف مقاومة للمرض في ظروف المختبر والبيت الزجاجي لاختزال الوقت والمال الناجمة عن الإصابة الطبيعية في الحقل التي تتطلب 8 – 10 أسابيع على الاقل منذ بداية زراعة المحصول ولحين ظهور الإصابة.

المواد وطرائق العمل

عزل وتشخيص المسبب المرضي :

عزل الفطر الممرض من نباتات باذنجان ظهرت عليها اعراض الاصابة وعلامات المرض في البيوت البلاستيكية / كلية الزراعة / جامعة بغداد للموسم 2012 – 2013 ، اذ جمعت الاجسام الحجرية للفطر من سيقان النباتات المصابة وعقمت سطحياً بالكحول الاثيلي 70% لمدة دقيقتين ثم غسلت بالماء المعقم وتركت لتجف على ورق ترشيح في غرفة العزل ثم وزعت كل 3 أجسام حجرية معقمة في أطباق بتري تحتوي على وسط البطاطا – دكستروز– اكار (PDA) المعقم سابقاً بجهاز الموصدة بدرجة حرارة 121 مْ وضغط 1.5 كغم / سم² ولمدة ربع ساعة والمضاف له 250 ملغم كلورمفينيكول/ لتر بعدها وضعت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 20± 2 ْم لمدة 5 أيام ثم اخذ جزء من الغزل الفطري من قرب حافة نمو المستعمرة وأعيد زراعته في طبق حاوٍ على وسط ال PDA كما موضح سابقاً وحضنت لمدة أسبوعين لملاحظة نمو الغزل الفطري وتكوين الاجسام الحجرية بعدها جمعت الأجسام الحجرية وعقمت سطحيا بمحلول القاصر التجاري (فاست) 10 % ثم غسلت بالماء المقطر المعقم وجففت وزرعت في أطباق بتري تحتوي على 30 غم من الزميج المعقم بالموصدة (بنفس الظروف الموضحة أعلاه) مع ترطيبه لدرجة التشبع ووضعت بالحاضنة بدرجة حرارة 15ْم مع إضاءة مستمرة بقوة 250– 270 لوكس لمدة 50 يوما لمتابعة تكون الأجسام الثمرية مع إضافة الماء المعقم كلما تطلب ذلك .أجريت الفحوصات المجهرية اللازمة لتأكيد تشخيص الفطر وذلك بعمل شرائح لمقاطع طولية من الجسم الثمري وملاحظة الأكياس والابواغ الكيسية بعد تصبيغها بصبغة التولدين الزرقاء ثم حفظت العزلة المنقاة بعد تنميتها لمدة 15 يوما في دوارق زجاجية سعة 250 مل تحتوي 100 غم تحتوي حبوب الحنطة المعقمة (Mohammed 2001) وحفظت في الثلاجة بدرجة حرارة 4ْم للاستعمالات اللاحقة .

تهيئة الشتلات :

اعتمدت 3 أصناف من الباذنجان المتوفرة في الأسواق هي صنف ثريا F1 إنتاج شركة Enza zaden الهولندية (استيراد شركة دبانة للزراعة الحديثة) وصنف برشلونة إنتاج شركة فيتو Fito وصنف باريس . عقم خليط من التربة المزيجية : تربة حقل (1 : 1

حجماً) بعد ترطيبها بالماء بالموصدة بنفس الظروف السابقة الذكر ولمدة 30 دقيقة وليومين متعاقبين . خلط المزيج السابق مع البتموس بنسبة 1: 2 حجماً . ملئت أصص سعة 3 كغم بالخليط السابق وزرعت 7 بذور / أصيص وعشرة مكررات لكل صنف وسقيت الأصص بالماء وبعد 7 أيام من الانبات خفت الباردات الى4 بادرات / أصيص (مكرر) لضمان تجانس المعاملات في كل الأصناف وتركت لتنمو مدة شهر في ظروف البيت الزجاجي التابع لقسم وقاية النبات (أجريت التجربة بتاريخ 3 – 31 كانون الثاني 2013) ثم نقلت بعدها الشتلات إلى غرفة الرطوبة المهيأة في نفس البيت الزجاجي لإجراء التجربة اللاحقة.

تهيئة غرفة الرطوبة :

حضرت غرفة رطوبة خاصة في داخل البيت الزجاجي لضمان توفير الظروف المناسبة للإصابة (رطوبة نسبية اكثرمن 80 % ودرجة حرارة 20 ± 2 مْ). غرفة الرطوبة عباره نفق بأبعاد 1.25 م × 2 م × 1 م ومحاطة بطبقتين من النايلون الزراعي . فرشت أرضية الطاولة بالزميج مع ترطيبه دائماً لضمان توفير الرطوبة النسبية العالية (وضع جهاز لقياس درجة الحرارة والرطوبة النسبية الكترونياً Extech) ووضعت الأصص داخل النفق ب 3 تكررات / صنف و4 نباتات للاصيص. نفذت التجربة وفق التصميم العشوائي الكامل وكانت المعاملات كالآتي :-

1- صنف ثريا F1 معامل بالفطر بطريقة تلقيح القمة النامية بالغزل الفطري .
2- الصنف ثريا نفسه بدون فطر (معاملة مقارنة) .
3- صنف برشلونة معامل بالفطر بطريقة تلقيح القمة النامية بالغزل الفطري .
4- الصنف برشلونة نفسه بدون فطر (معاملة مقارنة).
5- صنف باريس معامل بالفطر بطريقة تلقيح القمة النامية بالغزل الفطري .
6- الصنف باريس نفسه بدون فطر (معاملة مقارنة).

طرائق التلقيح :

اتبعت ثلاث طرق للتلقيح وهي التلقيح بوضع قرص من الغزل الفطري المنمى على وسط PDA على القمة النامية للنباتات بعمر شهر، وتلقيح الاوراق المنفصلة بالغزل الفطري وبحامض الاوكساليك.

1-طريقة وضع قرص من مايسليم الفطر على القمة المرستيمية لنباتات بعمر شهر :

اتبعت طريقة Chen و Wang ،(2005) مع تحوير طريقة تحضير اللقاح ، اذ استعمل قرص من مايسليم الفطر المنمى على وسط PDA بدلاً من معلق المايسليم مع الماء المقطر، اذ قطع قرص 5 ملم (بواسطة قاطع الفلين) من قرب حافة نمو الغزل الفطري ل *S. sclerotiorum* على وسط PDA بعمر 3 أيام ورشت النباتات الموضوعة في غرفة الرطوبة بالماء المعقم بوساطة مرشة يدوية ووضع القرص على القمة المرستيمية للنباتات. كررت العملية مع بقية الأصناف بالطريقة نفسها ومعاملة المقارنة تضمنت وضع قرص من الوسط الزرعي بدون الفطر مع مراعاة بقاء أرضية الغرفة رطبة بدرجة كافية لضمان تهيئة ظروف مناسبة للإصابة . قيس طول البقعة المصابة من القمة إلى أخر حدود البقعة على الساق الرئيس للنبات في اليوم الخامس عشر بعد التلقيح بوساطة المسطرة وأعيد زراعة قطع (5 ملم) من الساق في منطقة البقع للتأكد من وجود الفطر على وسط PDA.

2 – طريقة تلقيح الأوراق المنفصلة :

قطعت الأوراق الحقيقية الثالثة بعد القمة مع حاملها ، من النباتات بعمر 35 يوماً والتي سبق زراعتها في الأصص في البيت الزجاجي ثم وضعت كل أربع أوراق من كل صنف في علب بلاستيكية (4 × 7 سم) معقمة مملوءة نصفها بالماء المعقم ولقح نصل الأوراق قرب العرق الوسطي بقرص 5 ملم من الغزل الفطري النامي على وسط PDA بعمر 3 أيام وبثلاثة مكررات لكل صنف ، واجريت معاملات المقارنة بنفس الطريقة وكان التلقيح بقرص من الوسط PDA فقط . وزعت في الحاضنة وفق تصميم عشوائية كاملة وحضنت بدرجة حرارة 20± 2 °م لمدة 48 ساعة مع وضع 200 مل من محلول مشبع من كبريتات الزنك $ZnSO_4$ في طبق زجاجي للحفاظ على رطوبة 90 % داخل الحاضنة (Young ،1967) .

3-طريقة التلقيح بحامض الاوكساليك (OA) على الأوراق المنفصلة :

اعتمد تركيز محلول حامض الاوكساليك 10 ملي مول / لتر (إنتاج شركة Merck) على الطرق المتبعة من قبل Marciano وآخرون ،(1983) و Guimara˜es وStotz ، (2004) وLehner وآخرون (2008) مع تحوير طريقة العمل وذلك بتقطيع أقراص من

ورق الترشيح بقطر 5 ملم وتعقيمها بالموصدة بنفس الظروف السابقة الذكر لمدة ربع ساعة وتركت لتبرد ثم شبعت بمحلول الحامض ووضع القرص على نصل الورقة العلوي قرب العرق الوسطي ، وضعت الأوراق الملقحة في الحاضنة بنفس الظروف كما موضح بالتجربة السابقة وعملت 3 مكررات لكل صنف وكل مكرر 4 أوراق في حين تضمنت معاملات المقارنة وضع قرص من أوراق الترشيح مشبعة بماء معقم فقط .قيست مساحة البقعة ومساحة الورقة بعد 48 ساعة من التلقيح باستخدام برنامج الأوتوكاد 2013 واستخرجت النسبة المئوية للمساحة المصابة من الورقة وفق المعادلة :-

المساحة المصابة من الورقة (%) ={ مساحة البقعة(سم²) / مساحة الورقة الكلية(سم²)}× 100.

واستنادا الى النتائج المستحصل عليها من التجربة اعلاه اعيدت تجربة تلقيح الاوراق المنفصلة بقرص من الغزل الفطري فقط وللاصناف الثلاث وسجلت النسبة المئوية لمساحة الورقة المصابة بعد 4 ايام وكما ذكر سابقاً.

التحاليل المختبرية :

قيست نسبة الكربون إلى النيتروجين في الأوراق المنفصلة الملقحة بالفطر وبالحامض وغير الملقحة (مقارنة) ، إذ قدر الكربون العضوي بطريقة Walkly-Bluck الواردة فيPage وآخرون (1982) أما النتروجين فقدر بطريقة Microcheldal وحسب ما ورد في الكتاب أعلاه وحسبت النسبة المئوية لمحتوى البروتين الكلي بضرب النسبة المئوية للمحتوى النتروجين × 6.25 . قدرت فعالية إنزيم البيروكسيديز حسب طريقة Whitaker وBerhard ، (1972) .

النتائج

العزل والتشخيص

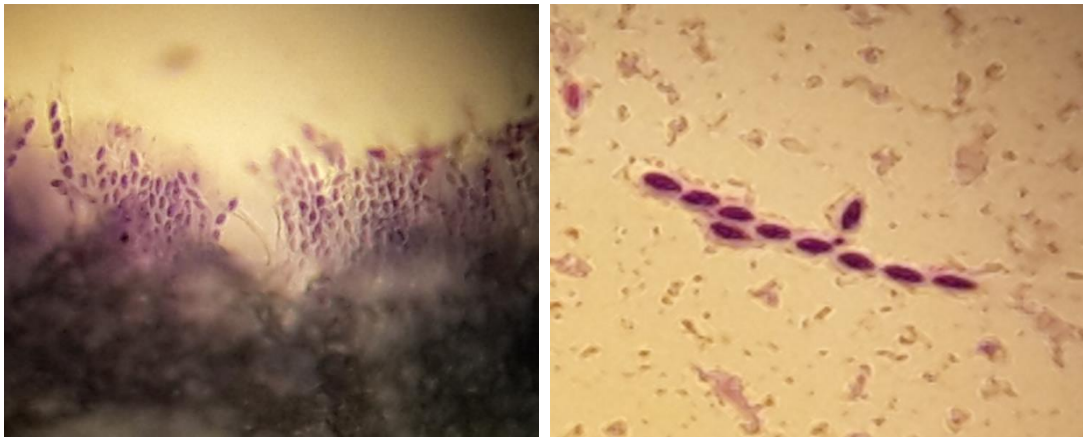
أظهرت نتائج العزل المختبري للأجسام الحجرية من نباتات الباذنجان المصابة على وسط PDA نموا ابيض يمثل الغزل الفطري للفطر وامتلاء الطبق بعد أربعة أيام من الحضانة مع وجود غزل هوائي خفيف التصق بغطاء الطبق ولوحظ بداية تكون الأجسام الحجرية بعد خمسة أيام من الزراعة بشكل تجمعات بيضاء مع وجود إفرازات عديمة اللون وتحول لون هذه التجمعات تدريجيا إلى اللون الأسود واظهر اختبار تحفيز الأجسام الثمرية (

Apothecia) تكونها بعد 45 – 50 يوما من حضن الأجسام الحجرية في وسط الزميج الرطب والمعقم مسبقا بالموصدة كما سبق ذكره وهي بشكل قرص شبه دائري تحمل على سيقان ، لحمية النسجة بيضاء– زهرية اللون تراوحت اقطارها2 – 6 ملم (الشكل ، 1)، أن جميع هذه الصفات تتطابق مع ما وجده Kohen ،(1979) و Tariq وآخرون ،(1985) و Boland وSmith ،(1991).

B A

شكل 1:عزل الفطر من نباتات الباذنجان اذ يمثل A– مستعمرة الفطر ***Sclerotinia sclerotiorum*** على وسط PDA بعمر 20 يوما. B– الأجسام الثمرية للفطر بعد 45 – 50 يوم من الحضانة بدرجة حرارة 15 °م وفي ظروف إضاءة مستمرة 250– 260 لوكس.

اظهر الفحص ألمجهري للأجسام الثمرية بعد 7 أيام من تكونها وجود الأكياس وبداخلها 8 ابواغ كيسية بيضوية الشكل (الشكل ، 2) .



b a

شكل 2 :الفحص المجهري للاجسام الثمرية a– الأكياس والسبورات الكيسية(200 x). b– الكيس وبداخله السبورات الكيسية (x400).بعد الصبغة

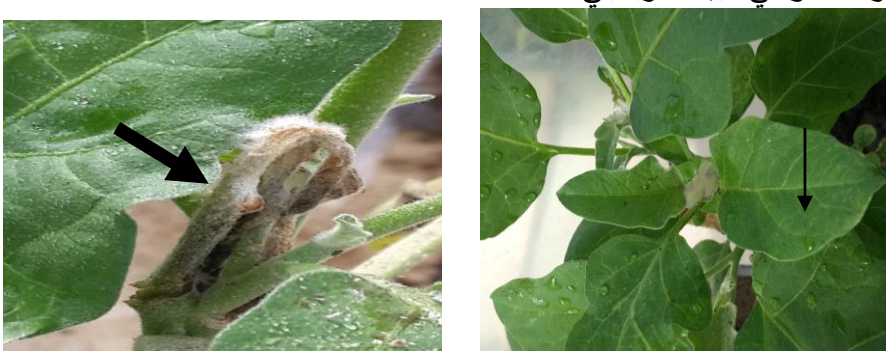
طرائق التلقيح بقرص من الغزل الفطري على القمة المرستيمية للنباتات بعمر شهر

أظهرت النتائج نجاح عملية تلقيح القمة النامية للنباتات بقرص 5 ملم من الغزل الفطري في ظروف البيت الزجاجي وإحداث الاصابة ، إذ ظهرت الاعراض بصورة واضحة من القمة وفي منطقة الساق تحت منطقة التلقيح (القمة المرستيمية للنبات) والمتمثلة ببقع مائية وموت الانسجة شمل الساق بالكامل مع ذبول الأوراق (الشكل، 3) بعد 8 ايام من التلقيح و تباينت استجابة الأصناف معنويا للاصابة إذ بلغ معدل طول البقعة المصابة بعد 15 يوما من التلقيح 93.67 و45 و14.67 ملم في كل من الأصناف باريس وبرشلونة وثريا F1 على التوالي كما موضح في (الجدول ،1).

جدول 1 :طول البقعة الناتجة من تلقيح القمة النامية لساق نباتات الباذنجان بقرص من الغزل الفطري *Sclerotinia sclerotiorum* في الأصناف الثلاثة في ظروف البيت الزجاجي.*

الأصناف	معدل طول البقعة المصابة (ملم)
برشلونة	صفر
برشلونة + الفطر *S. sclerotiorum*	45.00
باريس	صفر
باريس + الفطر *S. sclerotiorum*	93.67
ثريا F1	صفر
ثريا F1 + الفطر *S. sclerotiorum*	14.67
اقل فرق معنوي بمستوى 0.01	3.38

*قطر القرص 5 ملم اخذ من قرب حافة النمو *S. sclerotiorum* على وسط PDA بعمر 3 أيام ووضع على القمة النامية للنباتات مع ترطيبها بالماء المعقم . اخذت القياسات بعد 15 يوم من التلقيح في ظروف غرفة النمو في البيت الزجاجي .



a b

شكل 3: تلقيح القمة النامية لساق نباتات الباذنجان صنف برشلونة (a) . بعد التلقيح بثمان ايام (b).

تلقيح الاوراق المنفصلة :

تشير نتائج المبينة في(الجدول، 2) إلى وجود اختلاف معنوي لنسبة الاصابة للأصناف الثلاثة قيد الاختبار بعد تلقيح الاوراق المنفصلة بقطعة من الغزل الفطري ،اذ اختلفت النسبة المئوية للمساحة المصابة من الورقة، وسجلت اقل مساحة مصابة في الصنف ثريا F1 والتي بلغت 0.6% وتلاه الصنفين برشلونة وباريس إذ كان معدل النسبة المئوية للمساحة المصابة من الورقة 1.39 و1.79 %على التوالي بعد 48 ساعة من المعاملة (الشكل ،4).

اظهر الصنف ثريا F1 مقاومة عالية للإصابة بالمرض،إذ سجل معدل النسبة المئوية لمساحة الورقة المصابة نتيجة التلقيح بالغزل الفطري 0.6 % ولم تختلف معنوياً عن معاملات المقارنة بدون تلقيح وحامض الاوكساليك 3.45 %، ويدعم هذا تزايد نسبة لمحتوى البروتيني في الأوراق المعاملة بالغزل الفطري او بالحامض والتي بلغت 39.3 و47.93 % على التوالي. سجل زيادة فعالية إنزيم البيروكسيديز بحوالي اثنين الى ثلاثة أضعاف في كلا المعاملتين والتي بلغت 287.8 و333.77 وحدة / غم وزن طري على التوالي مقارنة بفعاليته في معاملة المقارنة والتي بلغت 97.37 وحدة / غم وزن طري بينما انخفضت فعالية انزيم البيروكسيديز في الصنف برشلونة بعد 48 ساعة من تلقيح الأوراق بقرص من ورق

جدول 2: استجابة الأوراق المنفصلة لاصناف الباذنجان بعد تلقيحها بقرص من الغزل الفطري ***Sclerotinia sclerotiorum*** وحامض الاوكساليك في ظروف الحاضنة.*

معاملات أصناف الباذنجان	%لمعدل المساحة المصابة في الورقة	% لمعدل البروتين	معدل نسبة N:C في الأوراق	معدل فعالية أنزيم البيروكسيديز وحدة / غم
برشلونة	0.00	44.33	24.90	131.33
برشلونة + الفطر *S. sclerotiorum*	1.39	35.00	24.30	758.67
برشلونة + حامض الاوكساليك	40.07	30.60	24.80	300.20
باريس	0.00	31.20	27.70	509.13
باريس + الفطر *S. sclerotiorum*	1.79	35.00	31.83	502.07
باريس + حامض الاوكساليك	2.4	37.00	26.26	586.67
ثريا F1	0.00	33.80	25.29	97.37
ثريا F1 + الفطر *S. sclerotiorum*	0.60	39.30	24.80	287.80
ثريا F1 + حامض الاوكساليك	3.45	47.93	31.00	333.77
اقل فرق معنوي بمستوى 0.05	0.78	1.68	0.734	18.08

*قيست مساحة الورقة والبقعة ببرنامج الأوتوكاد 2013 و%لمساحة الورقة المصابة = {مساحة البقعة(سم²) / مساحة الورقة الكلية(سم²)}× 100. قرص لقاح الغزل الفطري 5 ملم وتركيز حامض الاوكساليك المستخدم 10 ملي مول / لتر. ظروف الحاضنة (20± 2 °س و90 % رطوبة نسبية خلال فترة الحضانة 48 ساعة).

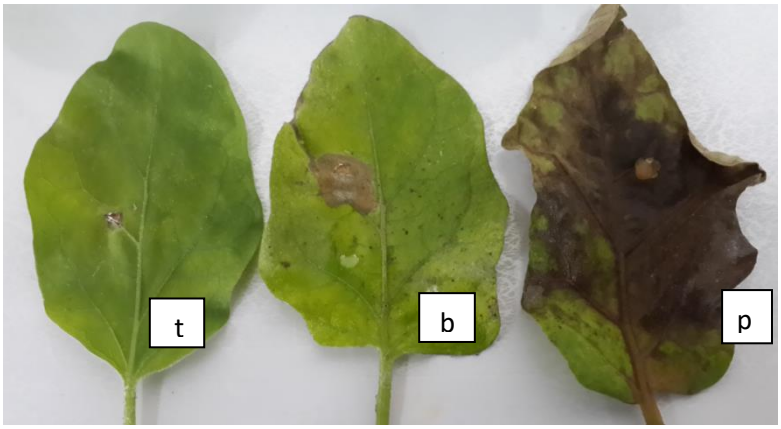
شـــكل 4: اســتجابة ثلاثــة اصــناف باذنجــان للتلقــيح بقــرص مــن الغــزل الفطــري لــل ***Sclerotinia sclerotiorum*** وحـامض الاوكسـاليك فـي ظـروف الحاضـنة بعـد 48 ساعة اذ يمثل a = تلقيح بحامض الاوكساليك و s = تلقيح بقرص من الغزل الفطري و c = المقارنة (بدون تلقيح).

ترشيح مشبع بحامض الاوكساليك مقارنة مع الأوراق الملقحة بالفطر والتي بلغت 300.2 و758.67 وحدة / غم وزن طري على التوالي، ولكنها إجمالا ارتفعت عن معاملة المقارنة (بدون تلقيح) ، اذ سجلت 131.33 وحدة / غم وزن طري ، ورافق ذلك زيادة النسبة المئوية للمساحة المصابة من الورقة التي بلغت 40.07 % مقارنة مع معاملة الورقة بالغزل الفطري او في حالة المقارنة (بدون تلقيح) والتي كانت 1.39 وصفر % على التوالي ، ويلاحظ في الصنف باريس انه لاتوجد فروقات معنوية في فعالية الانزيم بين معاملة المقارنة (بدون تلقيح) ومعاملة الاوراق بقرص من الغزل الفطري بعد 48 ساعة والتي بلغت 509.13 و502.07 وحدة / غم وزن طري على التوالي في حين اختلفتا معنوياً عن معاملة حامض الاوكساليك التي بلغت 586.67 وحدة / غم وزن طري ، اما الصنف ثريا فقد كانت فعالية الانزيم مختلفة معنوياً في كلٍ من معاملتي تلقيح الاوراق بالغزل الفطري او بحامض الاوكساليك مقارنة مع معاملة المقارنة اذ بلغت 287.80 و333.77 و97.37 وحدة / غم وزن طري على التوالي وتبين نتائج تحليل نسبة الكاربون : النتروجين في الاوراق المنفصلة والموضحة في (الجدول، 2) انها ضمن النسبة الملائمة لنمو الفطر بشكل جيد وهي 10: 1 و35 : 1 (Mwangi واخرون 2012)، في حين اشار Elgorban واخرون (2014) من ان فعالية الفطر تزداد كلما قلت هذه النسبة .

اظهرت النتائج الموضحة في (الجدول، 3) ان النسبة المئوية لمساحة الورقة المصابة بعد 4 ايام من التلقيح اختلفت معنويا بين الاصناف ، اذا بلغت 0.47 و5.17 و84.5 % في الاصناف ثريا F1 وبرشلونة وباريس على التوالي (الشكل ،5).

جدول 3: النسبة المئوية لمساحة الورقة المصابة في الاوراق المنفصلة لاصناف الباذنجان الثلاثة بعد تلقيحها بقرص من الغزل الفطري للفطر ***Sclerotinia sclerotiorum*** بعد 4 ايام من التلقيح في ظروف المختبر.

المعاملات	% لمساحة الورقة المصابة
برشلونة	0.0
برشلونة + الفطر *S. sclerotiorum*	5.17
باريس	0.0
باريس + الفطر *S. sclerotiorum*	84.5
ثريا F1	0.0
ثريا F1 + الفطر *S. sclerotiorum*	0.47
اقل فرق معنوي (P 5%)	2.34



شكل 5: تاثير التلقيح بقرص 5 ملم من الغزل الفطري ***Sclerotinia sclerotiorum*** لاوراق اصناف الباذنجان قيد الدراسة بعد 4 ايام في ظروف الحاضنة (p = صنف باريس و b =صنف برشلونة و t= صنف ثريا).

المناقشة :

أظهرت نتائج هذه الدراسة ان درجات الحرارة التي تتراوح بين 12 و20 ± 2 °م في الليل والنهار على التوالي ، ورطوبة نسبية بحدود 80– 90 % في البيت الزجاجي والحاضنة على التوالي وفي ظروف الإضاءة الطبيعية والظلام التام في كلا من البيت الزجاجي والحاضنة قد ساهمت في نجاح عملية الاصابة على النباتات المختبرة .

لوحظ أن جميع النباتات الملقحة بطريقة وضع قرص من الغزل الفطري للمسبب المرضي بتماس مع القمة النامية لأصناف الباذنجان الثلاث قد سببت نسبة إصابة 100% للنباتات خلال 8 أيام من التلقيح مع اختلاف طول البقعة للمنطقة المصابة في الأصناف الثلاث، وهذا يشير إلى النجاح في توفير الظروف المناسبة لإحداث الإصابة في البيت الزجاجي وكذلك الحال في ظروف الحاضنة عند إتباع طريقة تلقيح الأوراق المنفصلة وباستعمال الغزل الفطري او حامض الاوكساليك اللذان سببا ظهور أعراض موت الأنسجة خلال 24 ساعة ، كما يظهر وبشكل واضح مدى اختلاف استجابة الأصناف الثلاثة للممرض من خلال تباين النسبة المئوية لمساحة الورقة المصابة.

تظهر النتائج أن طريقتي التلقيح باستعمال الغزل الفطري للفطر *S. sclerotiorum* المنمى على وسط PDA في طريقة تلقيح الأوراق المنفصلة والقمة المرستيمية للنباتات قد سجلت نتائج ايجابية فضلا عن كفاءة هاتين الطريقتين في تكشف أعراض المرض خلال 24 ساعة و8 أيام على التوالي ، لذا تعد هذه الطرق في تلقيح النباتات من الطرق التي تعطي نتائج سريعة في اختبارات امراضية هذا الفطر على العائل النباتي، والذي يختصر الجهد والوقت مقارنة بالطرق الاخرى التي تاخذ وقتا طويلا قد يصل الى اكثر من 50 – 60 يوما لتكشف الاصابة في حال زراعة النباتات بالحقول الملوثة بالمرض، فضلا عما تتطلبه من مساحات واسعة واتلاف النباتات والتي تكون ذات قيمة وتكلفة اقتصادية عالية.

لوحظ ان ورقة الصنف باريس تمتاز بوجود شعيرات كثيفة مقارنة بالصنف برشلونة ثم الصنف ثريا F1 وقد تكون لهذه الشعيرات تاثير في اعاقة تقدم الغزل الفطري خلال ال 48 ساعة الاولى، وابطئت من انتشار حامض الاوكساليك في نسيج الورقة بدليل وجود البقعة المائية حول قرص المايسليم (الشكل، 4)، وبعد اربعة ايام ظهرت بوضوح حالة موت

الانسجة والتي شكلت مساحة 84.5% من مساحة الورقة الكلية (الشكل، 5)، وقد يشيرهذا الى ان كمية الحامض المتجمعة في نسيج الورقة خلال 4 ايام لها دور في ظهور اعراض موت الانسجة كما قد يشيرالى ان مقاومة الصنف باريس للفطر هي مقاومة بنائية وليست كيميائية بدليل عدم التغير المعنوي لفعالية انزيم البيروكسيديز في الورقة الملقحة بالغزل الفطري مقارنة بالورقة غير الملقحة (الجدول، 2.) ومع هذا فان المقاومة البنائية لم تكن كافية لتوقف او تثبط اختراق الفطر او افرازه للحامض وانتشاره في نسيج الورقة إلى الحد الذي سبب ظهور أعراض موت نسيج الورقة (من ملاحظات الباحث).وتعد هذه الدراسة الاولى التي تتناول تقييم مقاومة اصناف من الباذنجان للاصابة بتعفن الساق السكلروتيني اذ لم تجد الباحثة اي دراسة تدعم هذه النتائج في العراق او العالم.

أن حامض الاوكساليك هو عامل امراضية للعديد من الفطريات الممرضة للنبات ومنها مسبب مرض العفن الابيض *S. sclerotiorum* ، اذ اشارت دراسة الى أن فتحات الثغور في أوراق الباقلاء الملقحة بالفطر تكون مفتوحة طوال الليل وهذا يختلف عما موجود في الأوراق غير الملقحة ، ولكون حامض الابسسيك Abscisic acid (ABA) هو المسؤول عن تنظيم هذه العملية لذلك يعتقد أن حامض الاوكساليك يخل بهذا التنظيم من خلال تثبيط عمل الحامض او تغير التنظيم الازموزي للخلايا الحارسة (Guimara˜es وStotz ،2004).

اثبتت العديد من الدراسات أن امراضية الفطر وضراوته تعود لإنتاجه حامض الاوكساليك الذي يعمل على تحلل الأنسجة (Godoy وآخرون ،1990 وFerrar وWalker، 1993 وWegulo وآخرون، 1998) ، وبعض الباحثين استعملوا هذا الحامض في تطوير تقنية غربلة الأصناف مما يشير إلى أن هذا الحامض يعطي مؤشرا واضحا لمربي النباتات المقاومة للفطر عند استعماله بتراكيز مختلفة تتراوح بين 0.2– 50 ملي مول / لتر فضلا عن اعطائه مؤشرا على شراسة العزلة ومدى تحمل أو حساسية الأصناف للإصابة بالفطر (Noyes وHancock، 1981 و Tu، 1989) في حين اشار Vasić واخرون ،(2002) الى ان التراكيز 2 و3 و4 ملي مول لحامض الاوكساليك تعد تراكيز مناسبة لاختبار حساسية اصناف من زهرة الشمس للاصابة بالفطر

S. sclerotiorum وقد يعود هذا الاختلاف لتباين استجابة الانواع النباتية للاصابة بالمرض فضلا عن اختلاف قابلية العزلات الامراضية.

ان مقياس التغير في بعض المواد البايوكيميائية والانزيمية بالنبات يعطي مؤشراً على مقاومة او حساسية الاصناف للاصابة بالمسببات المرضية ومنها الفطر *S. sclerotiorum* ، اذ يعد انزيمي الفنيل الانين امونياليز (PAL) والبيروكسيديز (PO) من الانزيمات التي ترافق النباتات المصابة بالمسببات المرضية (Hammerschmidt واخرون، 1982 و Southerton و Deverall، 1990) ، ويعد انزيم PAL اول انزيم في مسار انتاج الفنيل بروبانويد Phenylpropanoid التي تودي الى انتاج الفايتوالكسين والفينولات لتكوين اللكنين بمساعدة انزيم PO (Basha و Chatterjee 2007).

أن انخفاض فعالية الأنزيم في الصنف برشلونة عند المعاملة بحامض الاوكساليك مع زيادة المساحة المصابة بالورقة قد يشير إلى تعطيل أو خلل في نظام الإشارة لبدء الدفاعات النباتية ضد عامل الامراضية الأساسي للفطر الممرض في الأوراق وبالتالي نجاح اختراقه للورقة وزيادة النسبة المئوية للمساحة المصابة بالورقة كون الحامض بتماس مباشر مع أنسجة الورقة ، وقد أشير في بحث سابق إلى أن هذا الحامض ينتشر بسرعة في الأوعية الناقلة للورقة مقارنة بسرعة تحرك الغزل الفطري (Noyes و Hancock ،1981) ويمكن ان يؤدي ضعف التراكيب البنائية التي تعيق انتشار الحامض مثل سمك الطبقة الشمعية أو قلة كثافة الشعيرات على الورقة ممكن الى المساهمة في سرعة انتشاره أو التأثير الكبير لهذا الحامض على الأنسجة وسرعة تحطيمها، أما عند تلقيح الورقة بالغزل الفطري فان الفطر يحتاج إلى وقت كي يستقر ويبدأ بإفراز الحامض ثم ينتشر في انسجة الورقة ويسبب الأعراض وخلال تلك المدة يمكن ان يتحفز النبات وتبدأ اليات الدفاع بالنبات بالعمل والمتمثلة في فعالية الانزيم العالية والتي تزيد عن معاملة المقارنة (بدون تلقيح) بحوالي خمسة اضعاف (الجدول، 2).ان هذه النتائج تتماشى مع الابحاث التي اجريت على نباتات مختلفة تصاب بالفطر *S. sclerotiorum* (Malenčić واخرون ، 2013 و Bairwa واخرون ، 2014).

من ملاحظة فعالية الأنزيم بين معاملات المقارنة للأصناف الثلاث وبين فعاليته في معاملة الأوراق بقرص من الغزل الفطري بعد 48 ساعة ، يتبين أن مقاومة الأصناف

للإصابة قد تعود أيضا إلى وجود تراكيب بنائية في أصناف الباذنجان تحد من تطور البقعة ، فبالرغم من الاستجابة الكبيرة للصنف برشلونة لمقاومة الإصابة بالفطر والمتمثلة بتغير فعالية الأنزيم بنحو أكثر من خمسة أضعاف في الأوراق الملقحة بالغزل الفطري مقارنة مع الأوراق غير الملقحة (758.67 و131.33 وحدة / غم وزن طري على التوالي) إلا أن معدل النسبة المئوية للمساحة المصابة من الورقة كانت اكبر من معدل النسبة المئوية للمساحة المصابة في الصنف ثريا F1 والتي كانت فيه الاستجابة لمقاومة الإصابة بالفطر والمتمثلة بتغير فعالية الأنزيم بنحو ثلاثة أضعاف في الأوراق الملقحة بالغزل الفطري مقارنة مع الأوراق غير الملقحة (287.80 و97.37 وحدة / غم وزن طري على التوالي) او قد يعود هذا الى وجود عوامل اضافية في الصنف ثريا F1 كانتاج فايتوالكسين او فينولات سببت تثبيطا لنمو الفطر وبالتالي انخفاض النسبة المئوية للمساحة المصابة من الورقة بعد 4 ايام من التلقيح (الجدول، 3) .

أن اعتماد طريقة تلقيح القمة النامية والاوراق المنفصلة لاصناف الباذنجان بمايسليم الفطر يوفر المال والوقت فضلا عن بساطتها وقلة تكاليفها المادية ، فهي لا تحتاج معدات وأجهزة خاصة كما إنها تتعامل مع النباتات بدون تجريح اي انه يمكن استعمالها لتقييم المقاومة الطبيعية الموجودة في النبات أصلا ولأصناف مختلفة كما يمكن تقييم شراسة العزلات وقابليتها على اختراق النبات وإحداث الإصابة من خلال قياس قطر البقعة أو طول منطقة الإصابة في كل من تلقيح الأوراق المنفصلة والقمة النامية .

ان اعتماد طريقة تلقيح الاوراق بحامض الاوكساليك قد تكون مفيدة في حالة معرفة كمية او تركيز الحامض المنتج من عزلة الفطر كي يحاكي الاختبار الحالة الطبيعية ولاسيما ان هناك تفاوتاً كبيراً بين التراكيز المستعملة من قبل الباحثين في الدراسات السابقة.

المصادر

1 – جبر، كامل سلمان وخالد عبد الرزاق حبيب. 1986.اهمية وحياتية الفطر ***Sclerotinia sclerotiorum*** (lib.)deBary المسبب لمرض العفن الابيض في الزراعة المحمية . مجلة البحوث الزراعية والموارد المائية ، مجلد 5 عدد1 ص 93 –103 نيسان .

2– مديرية الاحصاء الزراعي .2010 . إنتاج المحاصيل الزراعية ، وزارة التخطيط والتعاون الانمائي ، الجهاز المركزي للاحصاء وتكنلوجيا المعلومات. جمهورية العراق.

3– نعمة، رباب علي.2012.كفاءة بعض المبيدات الصديقة للبيئة في مكافحة الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* على محصول الباذنجان . رسالة ماجستير . كلية الزراعة جامعة بغداد.

4- Antonio R.P., J.B. Santos, T.P. Souza and F.F. Carneiro.2008. Genetic control of the resistance of common bean to white mold using the reaction to oxalic acid. Genetics and molecular research.7: 733- 740.

5- Bairwa S.K., S. L. Godara, P. Kumar , R.C. Bairwa and S. Gangopadhya. 2014. Biochemical Factors and enzymes governing resistance in Indian mustard against Sclerotinia stem rot (*Sclerotinia sclerotiorum).*African J. of Microbiology Research. 8 (36): 3295 – 3306.

6- Bateman, D. F. and S. V Beer. (1965)**.** Simultaneous production and Synergistic action of oxalic acid and poly galacturonase during pathogenesis by *Sclerotium rolfsii*, Phytopathology, 55: 204 – 211.

7- Basha S. A. and S.C. Chatterjee.2007. Effect of PGPR on *Sclerotinia sclerotiorum* infection through elicitation of Phenylalanine Ammonia Lyase in Chickpea . *Indian Phytopath.* 60 (3) : 313-316 .

8- Boland, G. J. and E. A. Smith. 1991. Variation in culture morphology and virulence among protoplast regenerated isolates of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathol*., 81: 766 – 770.

9- Boland, G. J. and R. Hall. 1987. Evaluating soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* under field conditions. Plant Dis. 71:934-936.

10- Bryan J., B. J. Culbertson ; J. Krone ,E. Gatebe, ; N. C. Furumo, and S. L. Daniel . 2007. Impact of carbon sources on growth and Oxalate synthesis by the phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* . World J. Microbiol. Biotechnol. 23: 1357 – 1362.

11- Chen, Y., and D.Wang. 2005. Two convenient methods to evaluate soybean for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum.* Plant Dis. 89:1268-1272.

12- Chun, D., L. B. Kao , J. L. Lockwood, and T. G. Isleib. 1987. Laboratory and field assessment of resistance in soybean to stem rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum.* Plant Dis. 71:811-815.

13- Delclos, B., C. Mousset-Declas, and G. Raynal. 1997. A simple method for the evaluation of red clover (*Trifolium pratense* L.) resistance to *Sclerotinia trifoliorum*. Euphytica 93 : 173-179.

14- Del Rio, L. E., N. C. Kurtzweil, and C. R Grau. 2001. Petiole inoculation as a tool to screen soybean germ plasm for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. (Abstr.) Phytopathology .91:S176.

15- Elgorban A.M. , A.H. Bahkali , M. Elsheshtawi and R.M. Sayed .2014 .Effect of Carbon , Nitrogen sources and Carbon to Nitrogen Ratio on *Sclerotinia sclerotiorum*. J. of pure and Applied Microbiology. 8 (5): 3697– 3701.

16- Favaron F., P. Alghisi , P. Marciano and P. Magro .1988. Polygalacturonase isoenzymes and oxalic acid produced by *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean hypocotyls as elicitors of glyceollin. Physiol. Mol. Plant pathol. 33:385-395.

17- Ferrar, P. H. and J. R. L. Walker.1993. *o*- Diphenol oxidase inhibition- an additional role for oxalic acid in the phytopathogenic arsenal of *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii*. Physiol. Mol. Plant Pathol. 43:415- 422.

18- Garg, H. , Li H., Sivasithamparam K. , J. Kou and J. Barbetti 2010. The infection processes of Sclerotinia sclerotiorum in cotyledon tissue of a resistant and a susceptible genotype of Brassica napus . Annals of Botany .106: 897-908.

19- Godoy G., J. R. Steadman, M. B. Dickman, and R. Dam. 1990. Use of mutants to demonstrate the role of oxalic acid in pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* on *Phaseolus vulgaris*. Physiol. Mol. Plant Pathol. 37:179-191.

20- Grau, C. R. and H. L. Bissonette. 1974. Whetzelinia stem rot of soybean in Minnesota . Plant Dis. Rep. 58:693-695.

21- Guimara˜es R. L. and H. U. Stotz. 2004. Oxalate Production by *Sclerotinia sclerotiorum* Deregulates Guard Cells during Infection1 Plant Physiology. 136:. 3703–3711 .

22- Hammerschmidt R., EM. Nuckles and J. Kuc 1982. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. Physiol Plant Pathol. 20:73–82.

23- Hernandez, J.A., M.A. Ferrer, A. Jimenez, A.R. Barcelo, and F.Sevilla. 2001. Antioxidant systems and O2)⁄H2O2 production in the apoplast of

pea leaves. Its relation with salt induced necrotic lesions in minor veins. Plant Physiol .127: 827–831.

24- Jamaux,I., B. Gelie and C. Lamarque. 1995. Early stages of infection of rapeseed petals and leaves by *Sclerotinia sclerotiorum* revealed by scanning electron microscopy. Plant Pathology.44(1):22-30.

25- Kim, H. S., G. L. Hartman, J. B. Manandhar, G. L. Graef, J. R. Steadman, and B. W. Diers. 2000. Reaction of soybean cultivars to Sclerotinia stem rot in field, greenhouse, and laboratory evaluations. Crop Sci. 40:665-669.

26- Koch, S. , S. Dunker , B. Kleinhenz, M. Rohrig and A. VonTiedemann .2007. A crop loss-related forcastingmodel for Sclerotinia stem rot in winter oilseed rap. Phytopathology . 97:470 – 483.

27- Kohen, L. M. 1979. A monographic revision of genus *Sclerotinia*. Mycotaxon, 9: 365- 444.

28- Kolkman, J. M., and J. D. Kelly. 2000. An indirect test using oxalate to determine physiological resistance to white mold in common bean. Crop Sci. 40:281-285.

29- Kull L.S., W.L. Pedersen , D. Palmquist and G.L. Hartman. 2004. Mycelial compatibility grouping and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum*. Plant Dis. 88 (4): 325– 332.

30- Kull L.S., T.D. Vuong, K.S.Powers , K.M. Eskridge, J.R. Steadman and G.L. Hartman. 2003. Evaluation of three resistance screening methods using six *Sclerotinia sclerotiorum* isolates and three entries of each soybean and dry bean. Plant Dis. 87: 1471–1476.

31- Lehner A. , P. Meimoun, R. Errakhi, K. Madiona, M. Barakate and F. Bouteau.2008. Toxic and signalling ffects of oxalic acid. Oxalic acid—Natural born killer or natural born protector? . Plant Signaling & Behavior 3:9, 746-748.

32- Lu G . 2003. Engineering *Sclerotinia Sclerotiorum* Resistance in Oilseed Crops. African Journal of Biotechnology Vol. 2 (12), pp. 509-516.

33- Lumsden R.D.1969. *Sclerotinia Sclerotiorum* infection of bean and the production of sellulase.Phytopathology. 59:653-657.

34- Malenčić D . , J. Cvejić, V. Tepavčević , M. Bursać, B. Kiprovski and M. Rajković. 2013. Changes in L-phenylalanine ammonia-lyase activity and isoflavone phytoalexins accumulation in soybean seedlings infected with *Sclerotinia sclerotiorum*. Cental European J. of Biology. 8(9) : 921-929.

35- Marciano, P., P. Di Lenna, and P. Magro. 1982. Polygalacturonase isoenzymes produced by Sclerotinia sclerotiorum in vivo and in vitro. Physiol. Plant Pathol. 20, 201-212.
36- Marciano, P., P. Di Lenna, and P. Magro. 1983. Oxalic acid, cell wall-degrading enzymes and pH in pathogenesis and their significance in the virulence of two *Sclerotinia sclerotiorum* isolates on sunflower. *Physiol Plant Pathol* 22,339–345.
37- Mohammed,B.T.2001.The biological study of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.)de- Bary and use of solar pasteurization for it's control . Ph.D. Thesis , Science College ,Babylon University .(in Arabic).
38- Muller D.S., A. E. Dorrance, R.C. Derksen, E. Ozkan, J.E Kurle, C.R. Grau, J. M. Gaska, G.L. Hartman ,C.A Bradley and W.L. Pedersen.2002. Efficacy of fungicides on *Sclerotinia sclerotiorum* and their potential for control of *Sclerotinia* stem rot on soybean. Plant Disease. 86: 26 – 31.
39- Mwangi E.S., E.G Gatebe and M.W. Ndungu. 2012. Impact of Nutritional and C:N Ratio and source on growth , oxalate accumulation and culture pH by *Sclerotinia sclerotiorum*.J. of Biology , Agriculture and Healthcare. 2 (10) :136 -146.
40- Nelson, B. D., T. C. Helms, and M. A. Olson. 1991. Comparison of laboratory and field evaluations of resistance in soybean to *Sclerotinia sclerotiorum.* Plant Dis. 75:662-665.
41- Noyes, R.D and J.G. Hancock. 1981. developed a sunflower cultivar screening test based on resistance of sunflower leaf cells to lysing when placed in oxalic acid. Physiology of Plant Pathology .18: 123 -132.
42- Page, A. L., R. H. Miller and D. R. (Eds) Keency. 1982. Chemical and microbiological properties. 2nd edition. Am. Soc. Agron. Wisconsin, USA.
43- Shoresh, M., G.E. , Harman, and F. Mastouri. 2010. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. Annu. Rev. Phytopathol 48, 1–23.
44- Southerton, S., and B. Deverall. (1990). Changes in phenylalanine ammonia- lyase and peroxidase activities in wheat cultivars expressing resistance to the leaf-rust fungus. Plant pathology, 39: 223-230.
45- Steadman, J., K. Eskridge, J. Costa, K. Grafton, J. Kelly, K. Kmiecik, J. Kolkman, J., Myers, and P .Miklas. 2001. Evaluation of sources of resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in common bean with five test methods at multiple locations. Annu. Rep. Bean Improv. Coop. 44:89-90.

46- Steadman, J.R., K. Powers, and B. Higgins. 1997. Screening common bean for white mold resistance using detached leaves. Annu. Rep. Bean Improv. Coop. 40 : 140-141.
47- Tariq, V.N.; C.S. Gutteridge , and P. Jeffries . 1985 . Comparative studies of cultural and biochemical characteristics used for distinguishing species within *Sclerotinia*. Trans. Br.Mycol.Soc.84(3),381-397.
48- Tu, J. C. 1985. Tolerance of white bean (*Phaseolus vulgaris*) to white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*) associated with tolerance to oxalic acid. Physiol. Plant Pathol. 26:111- 117.
49- Tu, J. C. 1989. Modes of primary infection caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in navy bean. Microbios 57:85-91.
50- Vasić D., D. Škorić, K. Taški and L. Stošić. 2002. Use of oxalic acid for screening intact sunflower plants for resistance to *Sclerotinia* in vitro . *Helia.* 25,(36) : 145-152.
51- Vuong, T. D., D. D. Hoffman, B. W. Diers , J. K. Miller, J. R. Steadman, and G. L. Hartman. 2004. Utilization of the cut stem inoculation method to evaluate soybean, dry bean, and sunflower for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. Crop Sci. 44:777-783.
52- Wegulo, S. N., X. B.Yang, and C. A. Martinson. 1998. Soybean cultivar responses to *Sclerotinia sclerotiorum* in field and controlled environment studies. Plant Dis. 82:1264-1270.
53- Whitaker, J. R., and B. A.Berhard. 1972. Experiments for an introduction to enzymology.The Whiber Press. Davis. California.
54- Young JF. 1967. Humidity control in the laboratory using salt solutions : a review. Journal of Applied Chemistry 17: 241–245.
55- Zhao J., A. J. Peltier, J. Meng, T.C., Osborn and C. R. Grau. 2004. Evaluation of Sclerotinia stem rot resistance in oilseed *Brassica napus* using a petiole inoculation technique under greenhouse conditions. Plant Dis. 88 (9): 1033–1039.

Evaluation of some eggplant cultivars to *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) deBary infection the casual agent of white stem rot in laboratory and greenhouse conditions

Neran Salem Aljarah
Plant protection Dep./ Agriculture College
Baghdad University

Abstract

This research was conducted at the College of Agriculture /Baghdad University during 2012 - 2013.The aims of this project were to evaluate three eggplant cultivars(Thurayya F1, Barshalona and Paris)for their resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) deBary in laboratory and greenhouse, In addition to develop a low-cost and high efficiency inoculation methods that can generate consistent results for screening the plants for resistance to sclerotinia stem rot . Three methods of inoculation were applied: the apical meristemes using plants of one month growth stage , inoculated with PDA mycelial pathogen plugs (5mm), detached leaf assay with PDA mycelial plugs (5mm) of pathogen and Oxalic acid (10mM). Lesion length , percentage of infected leaf area and peroxidase activity were measured .The results shown symptoms developed within 1 and 8 dayse after inoculation with both detached leaf assay and Oxalic acid and apical meristemes treatments respectively. Significant differences ($P \leq 1\%$) among eggplant cultivars resistance to *S. sclerotiorum* were found. Thurayya F1 was the less sensitive to infection when produced lesion of 14.67mm in length and 0.6 % percentage of infected leaf area. Whereas, Barshalona and Paris produced 45 , 93.67 mm, and 1.39% , 1.79% respectively. Peroxidase activity estimated in the detached leaves infected was three and five times more fold in Thurayya F1 and Barshalona cultivar respectively compared to control, while no significant differences occurred in Paris cultivar .

Key word: Eggplant , sclerotinia stem rot , *Sclerotinia sclerotiorum* , peroxidase activity.